动 物 学 研 究 2000, Dec. 21 (6): 499~506
Zoological Research

CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853



综 述

R914.2
R992

动物离子通道毒素与药物开发

赖 仞 查宏光 张 云①
(中国科学院昆明动物研究所 昆明 650223)

摘要：就离子通道和动物离子通道毒素的来源、种类、特性及其对新药开发的意义进行了综述。各种来源的动物毒素通常分子量较小，富含二硫键，是直接作用于分子靶标（如离子通道、受体及酶）的小分子蛋白质。很多动物毒素对电压门控离子通道具有高度的专一性和有效性，具有独特、简洁的三维空间结构。其对新药的发现、设计以及寻找潜在的治疗靶标具有重要的指导意义。

关键词：动物毒素；离子通道；药物 离子通道毒素
中图分类号：R996.3 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2000)06-0499-08

1 离子通道的多样性

离子通道可分为电压门控和配体门控离子通道。大多数动物离子通道毒素只作用于电压门控离子通道。电压门控 K^+、Na^+、Ca^{2+} 离子通道对神经元和其他可兴奋细胞在产生可传导电信号的过程中起着重要作用。组成这些离子通道的主要亚单位可单独地起离子通道的作用，但通过与其他辅助亚单位的偶联，可增加和修饰主要亚单位的功能表达和特性。这些离子通道既有相似的结构模型（都是带有一个对离子具有选择性的亲水孔的跨膜蛋白），又有一定的差异，以适应不同离子通道的普遍性和专一性。离子通道的开关由位于跨膜蛋白上的带电氨基酸残基组成的电压敏感区域控制，带电基团在电场中的运动导致蛋白质构象发生变化，从而控制离子通道对特定离子的渗透性变化。这些离子通道由于去极化激活引起离子渗透性的增强行为是双相的，在膜去极化时，膜对 K^+、Na^+、Ca^{2+} 离子的渗透性在 0.5 至几百毫秒内急剧增高，接着降低于基线水平保持 2 ms 至几秒。这种双相行为是由 2 个分离的门控过程引起的：①激活过程，它控制去极化激活引起渗透性的增加速度和电压依赖性；②灭活过程，它在持续的去极化期间，控制离子通道的渗透性回复到静息水平的速度和电压依赖性。因此，电压门控离子通道有 3 种功能状态：静息、激活和灭活。静息和灭活离子通道是非传导性的，激活状态的离子通道是对离子通透性高效率和高度选择性的（Norton, 1991）。电压门控离子通道上有众多调节因子结合位点，如 Na^+ 通道上已发现 5 个神经毒的结合位点（William, 1995）。电压门控离子通道在形成神经和肌细胞的电活动过程中，在控制神经递质和激素分泌的过程中起关键作用，因此维持离子通道的正常作用对神经系统、心血管系统以及代谢功能的正常发挥是必不可少的。

1.1 电压门控 Na^+ 离子通道

电压门控 Na^+ 离子通道由 α、β1 和 β2 3 个亚单位组成。α 与 β2 共价结合，而 α 与 β1 非共价结合。Na^+ 通道的 α 和 β 亚单位都高度糖基化，260 kD 的 α 亚单位形成 Na^+ 离子孔；30 kD 的辅助亚单位 β1 和 β2 调节离子通道动力学，有助于 α 亚单位在膜上定位。已发现 Na^+ 离子通道至少有 5 个神经毒素的结合位点（William, 1995），位点 1 结合河豚毒、石房蛤毒素和 μ-芋螺毒素，这些毒素阻断离子传导；位点 2 结合南美蟾毒、藜芦次碱、乌头碱和 Grayanotoxin，这些毒素可使 Na^+ 通道持续活化；位点 3 结合 α-蝎子毒素和海葵毒素，他们减慢或

收稿日期：2000-05-16；修改稿收到日期：2000-07-20
基金项目：中国科学院生物科学与技术研究特别支持费（STZ98-3-01），国家"863"高技术发展计划基因工程药物专题资助
①通讯联系人，电话：0871-5194279，e-mail：zhangy@mail.kiz.ac.cn

阻断 Na^+ 通道灭活；位点 4 结合 β－蝎子毒素，它改变通道激活的电压依赖性，使激活通道所需电压更低，对通道灭活没有影响；位点 5 结合西加毒素(ciguatoxin)，导致重复的神经冲动、改变通道结合的电压依赖性以及抑制通道灭活。α 亚单位的多样性形成了多种亚型 Na^+ 通道，到目前为止已在哺乳类中发现 11 种 α 亚单位基因，并在人和鼠基因组中对其进行了定位。其中的 7 个基因主要表达于神经元，1 个表达于骨骼肌，1 个主要表达于心肌，其余的则分布较为广泛(Plummer等，1999)(表1)。

1.2　电压门控 K^+ 离子通道

基因组分析显示，哺乳类中存在38个 K^+ 通道亚单位。K^+ 通道根据其电生理特性可分为两大类，即电压门控的 K^+ 通道（Kv 型或称 Shaker 型）和配体门控 K^+ 通道。仅就电压门控的 K^+ 通道而言，至少可分为 11 类，即 Kv1～9、Ikr 和 Iks（Maria 等，1998）(表 2)。

1.3　电压门控 Ca^{2+} 离子通道

存在多种类型的电压门控 Ca^{2+} 离子通道，按其组织分布、生理和药理特性的不同将它们分为 L－、P/Q－、N－、R－和 T－型电压门控 Ca^{2+} 离子通道（表 3)。它们都是由 α1、α2、β、γ、δ 等 5 种亚单位组成的异源 5 聚体蛋白质。

已发现 5 类编码 α1 的基因（A、B、C、D、E）(Zhang 等，1993；Soong 等，1993)，4 种编码 β 亚单位的基因。编码 α2、δ 亚基的是同一个基因，该基因可编码含有 1106 个氨基酸残基的蛋白质，此前体蛋白质在氨基酸残基 934～935 之间被切断，从而产生成熟的 α2、δ 亚基。至少已发现 3 种编码此前体蛋白的基因，α2a（表达于骨骼肌）、α2b（表达于神经元）和 α2c（表达于动脉）。不像其他亚单位，到目前为止还未发现有多种形式的 γ 亚基。

电压门控 K^+、Na^+、Ca^{2+} 离子通道在形成神经和肌细胞的电活动过程中，在控制神经递质和激素分泌过程中起关键作用，因此，维持离子通道的正常运行，对神经系统、心血管系统以及代谢功能的正常发挥必不可少。离子通道功能的紊乱和异常是多种临床神经系统和心血管系统疾病的病因。目前，以 L－型钙离子通道为靶点在心血管疾病的药物研究中已取得了极大的成功，如钙通道拮抗药在高血压、心绞痛、支气管哮喘、食管痉挛、痛经等疾病的临床治疗中已取得成效（Lubsen，1998)。近年来，以离子通道为靶点的抗癫痫药物也得到了迅速发展，如抗癫痫新药氟桂嗪是钙离子通道的阻断剂；拉莫三嗪是通过阻断钾通道从而抑制兴奋性氨基酸的释放。应激导致学习记忆能力的严重损伤。幼儿时经历过应激的青少年智力发育迟缓、老年性痴呆病人和老年人对应激极度敏感。目前研究表明，应激影响智力的发育，记忆的衰退和损伤与

表 1　哺乳类电压门控 Na^+ 离子通道

Table 1　Voltage-gated sodium channels of mammals

通道类型 (channel type)	分布 (distribution)	相关疾病 (related diseases)
α－亚单位 SCN1A	CNS，PNS	癫痫、疼痛、麻痹、神经保护、心律不齐、偏头痛、先天性肌强直以及其他运动终板疾病
SCN2A	CNS，神经胶质细胞	
SCN3A	CNS，神经胶质细胞	
SCN4A	骨骼肌	
SCN5A	心肌	
SCN6A	心脏，子宫	
SCN7A	心脏，神经胶质细胞	
SCN8A	CNS，PNS，神经胶质细胞	
SCN9A	PNS，神经胶质细胞	
SCN10A	PNS	
SCN11A	PNS	
β－亚单位 SCN1B (β1)	CNS、PNS、肌肉	
SCN2B (β2)	CNS	

CNS：中枢神经系统（central nerve system)；PNS：外周神经系统（peripheral nerve system)。

表 2　哺乳类电压门控 K^+ 离子通道

Table 2　Voltage-gated potassium channels of mammals

通道类型 (channel type)	分布 (distribution)	相关疾病 (related diseases)
Kv1.1	脑、心肌、骨骼肌	K^+ 通道阻断剂：心律不齐、多种组织硬化、早老性痴呆、免疫抑制 K^+ 通道激活剂：心绞痛、高血压、哮喘、尿失禁
Kv1.2	脑、心肌	
Kv1.3	脑、肺	
Kv1.4	脑、心肌、骨骼肌	
Kv1.5	脑、心肌、肾、骨骼肌	
Kv1.6	脑	
Kv1.7	脑	
Kv2.1	脑、心肌、肾、骨骼肌	
Kv2.2	脑、心肌	
Kv3.1	脑、淋巴细胞、骨骼肌	
Kv3.2	脑	
Kv3.3	脑、肝	
Kv4.1	脑	
Kv4.2	脑、心肌	
Kv5.1	脑、肺	
Kv6.1	脑	

表3　哺乳类电压门控 Ca^{2+} 离子通道

Table 3　Voltage-gated calcium channels of mammals

通道类型 (channel type)	分布 (distribution)	相关疾病 (related diseases)
P/Q	神经元	心绞痛、心律不齐、高血压、疼痛、神经保护、休克、偏头痛、动脉粥样硬化、早老性痴呆
N	神经元	
L	心肌	
L	神经元	
R	神经元	
T	神经元	
L	骨骼肌	
T	心肌	

K^+通道、Ca^{2+} 钙通道有着密切的关系（Xu 等，1999）。以这些离子通道为靶点进行新药研究，就可能找到控制神经细胞兴奋性、促进智力发育、改善记忆衰退等的新一代临床药物。细胞内离子浓度的变化，对艾滋病病毒 HIV 的生长繁殖、病毒颗粒的释放、感染细胞的死亡和凋亡、机会性感染、艾滋病病情进展起着十分重要的作用（Piller 等，1998）。许多离子通道的拮抗剂，如蝎毒多肽 Scorpin，蜂毒多肽 Mellitin 等都有显著的抗艾滋病病毒活性，而目前 Mellitin 已开发作为临床艾滋病的有效药物。

2　动物离子通道毒素

2.1　蝎子离子通道毒素

蝎子（*Pandinus imperator*）毒液中含有许多对离子通道起作用的毒素，按其分子大小可分为长链毒素和短链毒素。长链毒素大概有 70 个氨基酸残基组成，含有 4 对二硫键，主要对 Na^+离子通道起作用，也有对 K^+离子通道起作用的含 4 对二硫键的蝎子毒素，如蝎子毒液中的 K^+通道抑制剂就含有 4 对二硫键。短链毒素大约有 40 个氨基酸残基，含 3 对二硫键，主要对 K^+和 Cl^-离子通道起作用。事实上，蝎子短链毒素已成为研究 K^+通道的有用工具。蝎子短链毒素是 K^+通道的抑制剂，他们对确定 K^+通道的分子构建、从组织中纯化 K^+通道、确定其亚单位组成、研究 K^+通道的药理学以及 K^+通道在靶组织中的生理功能起着重要作用。尽管这两类毒素在分子大小、氨基酸组成方面有很大的差异，但他们却具有相似的空间三维折叠模型。他们都具有 α/β 蝎子毒素折叠构型，即 1 个短的 α－螺旋通过 2 个二硫键与 1 个小的 2 或 3 条 β－折叠片层相联。

蝎子 Na^+通道毒素按其专一性和有效性可分为 3 类（Froy 等，1999）：第 1 类 α－神经毒，这类毒素很多，他们通过抑制 Na^+通道灭活而延长动作电位，中国科学院上海生理研究所用生物传感器研究蝎子毒素 BmK AS－1 与大鼠脑突触小体的结合时发现，BmK AS－1 与 Na^+通道快速结合［1.14×10^4 $(M\cdot s)^{-1}$］而解离速度很慢［3.24×10^{-5} $(M\cdot s)^{-1}$］（Jia 等，1999）。α－神经毒对昆虫和哺乳动物的毒性表现有很大的差异，其一级结构和对神经细胞的结合能力也很不相同，大多数这类毒素对哺乳类有很强的毒性，但有少数的毒素对昆虫显示高度的专一性。第 2 类是兴奋性神经毒，他们只对昆虫起作用，可导致痉挛，可与分布于昆虫神经组织的受体专一性结合（如蝎子毒素 BMKIT-AP，Xiong 等，1999），这些结合位点对这类毒素具有高度亲和力（$K_d=1\sim3$ nmol/L），但结合容量很低（1.2～2.0 pmol/mg 蛋白质）。兴奋性神经毒的另一特性是一个半胱氨酸相对于其他几类蝎子毒素中处于保守位置的半胱氨酸发生了明显的位移。第 3 类是抑制性神经毒，其具有如下几个特点：可诱导昆虫短暂痉挛接着导致长时间的松弛麻痹；短时间内引起昆虫运动神经元的重复冲动，接着引起兴奋性阈电位幅度的降低；他们可识别位于蝗虫神经元细胞膜上的两类不发生相互作用的位点，一类位点具有高亲和力［K_d = (0.9 ± 0.6) nmol/L］，而结合容量低（B_{max} = 0.1～0.07 pmol/mg）；另一类位点具有低亲和力［K_d = (185 ± 13) nmol/L］，而结合容量高（B_{max} = 10～0.6 pmol/mg）。这类毒素对寻找和开发生物类杀虫剂有重要意义。

蝎子 K^+通道毒素按照其氨基酸序列可分为 3 大类（Maria 等，1998）：Charybdotoxin（ChTX）、Iberiotoxin（IbTX）和 Lq2。这 3 种毒素由于他们 N－端含有焦谷氨酸，且有 70%的氨基酸序列同源性而归入同一类。最近由 Dai 等（2000）从中国蝎子（*Buthus martensii* Karsch）毒腺 cDNA 库筛选得到 3 种 K^+通道毒素 BMTXs 也属此类；第 2 类包括 Noxiustoxin（NxTX）和 Margatoxin（MgTX）等，具有 80%的序列同源性，而与第 1 组相比，仅有 40%的序列同源性；最后一类包括 Agitoxin1（AgTX1）、Agitoxin2（AgTX2）、Agitoxin3（AgTX3）和 Kaliotoxin（KTX）等，具有 80%～90%的序列同源性，而同其他两类仅有 40%～50%的序列同源性。高传导性 Ca^{2+}离子激活的 K^+通道可为第 1 类毒素所抑制，但不受后两类毒素的影响。第 3 类毒素可

抑制低传导性 Ca^{2+} 离子激活的 K^+ 通道。但这3类蝎子 K^+ 通道毒素作用专一性也有所交叉，如3类毒素对钾离子Kv1.3通道显示高度的亲和力。

从另一种蝎子 *L. quinquestriatus* 毒液中得到的名为Chlorotoxin的Cl－通道阻断剂。这是一个含有36个氨基酸残基，拥有4对二硫键的多肽毒素。是表皮低传导性 Cl^- 通道的专一性阻断剂。另两种 Cl^- 通道毒素分别是由Wu等（2000）和Zeng等（2000）从中国蝎子（*B. martensii* Karsch）毒腺cDNA库筛选得到的含有35个氨基酸残基、4对二硫键的BM－12和BmKCT。

2.2 蛇毒离子通道毒素

蛇毒中存在大量的 K^+ 通道毒素，至少已发现了以α－dendrotoxin为代表的7种 K^+ 通道毒素(Harvey等，1998)。K^+ 通道毒素含有57～60个氨基酸残基，具有非常相似的氨基酸组成和空间折叠，但对各种类型的 K^+ 通道的作用有明显的差异。如α－dendrotoxin和ToxinⅠ在纳摩尔水平就可抑制某些电压门控 K^+ 通道（Kv1.1，1.2和1.6），ToxinK则只对Kv1.1起作用，且对这种 K^+ 通道的作用效率比其他毒素高得多。

2.3 芋螺离子通道毒素

很多芋螺属（*Conus*）腹足类软体动物含有刺毒。毒液在毒腺中分泌产生，通过毒球的泵压作用运送到齿舌鞘。当吻部捕食或被攻击时，齿舌鞘中的矢舌通过咽喉到达吻部末端，中途装入毒素，从吻部射出。其中食鱼性腹足类芋螺毒性尤强。芋螺毒液中含有多种离子通道毒素及受体毒素。

芋螺 K^+ 通道毒素：直到最近才由Craig等（1999）从芋螺（*Conus striatus*）毒液中得到对电压门控 K^+ 通道起抑制作用的多肽毒素κ－conotoxin PⅧA，它是一个含有3对二硫键、分子量为4 kD、C－端酰胺化、含1个糖基化位点的多肽。它对鱼和小鼠的最小致死剂量分别是50 pmol/g和400 pmol/g。

芋螺 Na^+ 通道毒素：最早发现的 Na^+ 通道毒素是从芋螺（*Conus geographus*）毒液中得到的μ－conotoxin，它可阻断肌肉 Na^+ 通道而对神经和大脑 Na^+ 通道没有影响。Mcintosh（1995）等从 *Conus marmoreus* 中分离得到了一类 Na^+ 通道阻断剂μO－conotoxinMrA和μO－conotoxinMrB，他们都由31个氨基酸残基组成。令人奇怪的是，μO－conotoxin与μ－conotoxin相比，他们的序列同源性很低，而μO－conotoxin与其他两种类型的芋螺 Ca^+ 通道毒素ω̄－conotoxins和δ－conotoxins（减缓 Na^+ 通道的灭活速率）则有很大的效率相似性，因此，Mcintosh等(1995)将μO－conotoxins、ω̄－conotoxins和δ－conotoxins同归为O型conotoxins。

芋螺 Ca^{2+} 通道毒素：这类毒素主要阻断电压敏感性 Ca^{2+} 通道（voltagesensitive calicum channels，VSCCs），统称为ω̄－芋螺毒素（ω̄－conotoxins）。他们是一类由24～29个氨基酸残基组成、含6个半胱氨酸形成3对二硫键带正电荷的多肽毒素。有至少5种类型的VSCCs（L，N，T，P/Q和R），不同来源的芋螺毒素对不同类型的 Ca^{2+} 通道有不同的专一性，如从芋螺（*Conus magus*）毒素得到的ω̄－CTX－MⅦA是N型 Ca^{2+} 通道的阻断剂，对大鼠大脑N型 Ca^{2+} 通道有较高的亲和力（$IC_{50}\approx 1$ nmol/L），并对其他类型的 Ca^{2+} 通道也有不同程度的亲和力。

芋螺5－羟色胺门控离子通道毒素：England等（1998）发现了一种由41个氨基酸残基组成名为σ－conotoxin GⅧA的对5－羟色胺受体亚型（5－HT_3）起抑制作用的芋螺毒素，这是第1个对配体门控离子通道起作用的芋螺毒素。由于大多数多肽神经毒素的分子靶标是神经递质受体和电压门控的离子通道，因此，这类对配体门控离子通道起作用的芋螺毒素已引起人们的极大关注。至少有14种5－羟色胺受体亚型。除一种受体亚型（5－HT_3）外，其他受体亚型皆与G－蛋白偶联。σ－conotoxin GⅧA是5－HT_3 受体的可逆性抑制剂，在1 μmol/L时可完全抑制5－HT_3 受体对5－羟色胺（10 μmol/L）的反应。含有41个氨基酸残基，5对二硫键。是迄今为止发现的最大的芋螺毒素多肽。

2.4 蜘蛛离子通道毒素

蜘蛛毒液中也含有大量的离子通道毒素，尤其是 Ca^{2+} 和 Na^+ 通道毒素，研究主要集中于漏斗网蛛神经毒素。

蜘蛛 Ca^{2+} 通道毒素：McDonough（1997）等从漏斗网蛛（*Agelenopsis aperta*）毒液中得到一种P－型 Ca^{2+} 通道阻断剂ω̄－agatoxin，它可抑制 Ca^{2+} 进入大鼠大脑突触小体，其分子量为5200 kD，含有48个氨基酸残基，4对二硫键。在200 nmol/L浓度时，可抑制（71±4）%的 Ca^{2+} 流入，其 IC_{50} 大概为20 nmol/L。Fletcher等（1997a）也从澳大利亚产漏斗网蛛（*Hadronyche versuta*）中得到昆虫 Ca^{2+} 通道

抑制剂 ω－atracotoxin－HV1（ω－ACTX－HV1）。它含有37个氨基酸残基，3对分子内二硫键。其分子内二硫键形成的胱氨酸结（Cys-knot）模型与其他几种毒素神经肽相似。Shu等（1999）从中国食鸟蛛（*Selenocosmia huwena*）毒液中得到的 huwentoxin－Ⅱ与 ω－ACTX－HV1 相似。尽管 ω－ACTX－HV1 与 ω－agatoxins and ω－conotoxins（这两类神经毒素都为脊椎动物的 Ca^{2+} 通道抑制剂）在氨基酸序列上有较大的差异，但 ω－ACTX－HV1 与 ω－agatoxins and ω－conotoxins 有明显的空间结构相似性。核磁共振研究表明，通过二硫键形成了由4个β－转折组成的球状核，而在溶液中，有一使溶剂易于与之接触的从球状核心伸出的β－发夹结构。ω－ACTX－HV1 只对昆虫门控 Ca^{2+} 通道起抑制作用，而对哺乳动物门控 Ca^{2+} 通道无影响。另一蜘蛛 Ca^{2+} 通道毒素是 ω－Aga－ⅡA，它主要对高电阈 Ca^{2+} 通道起作用。

蜘蛛 Na^+ 通道毒素：Nicholson等（1996）从悉尼产漏斗网蛛（*Atrax robustus*）分离得到的 Robustoxin（又名 δ－atracotoxin-Ar1）以及同样由他们从澳大利亚产漏斗网蛛（*Hadronyche versuta*）分离得到的 Versutoxin（又名 δ－atracotoxin-Hv1）。均为 Na^+ 通道抑制剂，都含有42个氨基酸残基，4对保守的分子内二硫键。其间仅7个氨基酸残基存在差异。都作用于河豚毒素敏感性 Na^+ 通道，通过减慢或抑制 Na^+ 通道灭活而发挥其神经毒作用。同时也改变 Na^+ 通道在超极化方向的电压依赖性，加快灭活离子通道的恢复速度。离子流研究表明，Robustoxin 和 Versutoxin 可导致部分 Na^+ 离子流的激活和对箭毒碱激活的 Na^+ 离子流的抑制。

此抑制作用主要是由于可增强箭毒碱对神经毒受体位点1的结合引起，而不是由于对该位点直接相互作用。Fletcher（1997b）等用 NMR 研究 Versutoxin 的溶液构象表明，其核心是一由三带反平行β－折叠组成的β－球状区域。β－区域有一指状延伸，其C－端有一 $3_{(10)}$ 螺旋，此结构与另一蜘蛛 Na^+ 通道毒素 mu-agatoxin-Ⅰ相似。奇怪的是，Versutoxin 与一植物多肽 Gurmarin 有很大的结构和序列相似性。Gurmarin 可导致味觉对甜味的抑制，这使人猜测，Gurmarin 也许通过与味觉传导有关的离子通道的相互作用而导致甜味压抑。漏斗网蛛 Na^+ 通道毒素、蝎子 α－毒素和海葵 Na^+ 通道神经毒素在结构上没有相似性，但它们都与神经毒受体位点3结合，并通过减慢或抑制 Na^+ 通道灭活的速度而发挥其神经毒作用，而且在导致重复的动作电位发放时，所引起的 Na^+ 通道门控作用和动力学的改变是一致的。

蜘蛛 K^+ 通道毒素：Swartz等（1995）从智利塔兰图蛛（*G. spatulata*）毒液中得到两种 Kv2.1 K^+ 通道阻断剂 Hanatoxin1（HaTx1）和 Hanatoxin2（HaTx2）。在细菌表达系统合成了这两种多肽毒素，其浓度依赖性（K_d = 42 nmol/L）和抑制动力学［$k_{on} = 3.7 \times 10^4$ $(M \cdot s)^{-1}$；$k_{off} = 1.3 \times 10^{-3}$ $(M \cdot s)^{-1}$］与天然毒素和 Kv2.1 K^+ 通道直接反应是一致的。而 Shaker 型、Shaw 型和 Eag 型 K^+ 通道对其不敏感。Sanguinetti等（1997）从蜘蛛 *Heteropoda venatoria* 得到另一类 K^+ 通道 Kv4.2 的阻断剂 Heteropodatoxins，这类多肽毒素含有29～32个氨基酸残基，可延长大鼠心室肌细胞动作电位的持续时间。用膜片钳技术研究其对心脏 K^+ 电流的影响，这些毒素可短暂地阻断外向 K^+ 电流而对其他 K^+ 电流无影响，用克隆 K^+ 通道 Kv4.2 进一步研究表明，对 Kv4.2 电流的阻断有电压依赖特性，可减慢电流激活和灭活的时间过程，以及在较高正电势时，可改变电流灭活的电压依赖性。

2.5 海葵离子通道毒素

海葵毒液里含有多种可对电压敏感性 Na^+ 通道和电压敏感性 K^+ 通道起作用的多肽毒素。

海葵 Na^+ 通道毒素：海葵毒液中有多种 Na^+ 通道毒素，如 AsⅠ（ATXⅠ），AsⅡ（ATXⅡ）和 AxⅠ（AP－A）等。海葵 Na^+ 通道毒素至少可分为3类，来源于 *Anthopleura* 和 *Anemonia* 属的海葵 Na^+ 通道毒素为类型1毒素，来源于 *Heteractis* 和 *Radianthys* 属的海葵 Na^+ 通道毒素为类型2毒素，这两类毒素含有46～49个氨基酸残基，另一类含27～31个氨基酸残基。对于前两类毒素，同一类毒素之间的序列同源性大于60%，而两类毒素间的相似性仅30%，它们也没有交叉免疫反应，在 Na^+ 通道上的结合位点也不同。海葵（*Calliactis parasitica*）体内的 Na^+ 通道毒素 Calitoxin（CLX）由46个氨基酸残基组成，它与两类长链毒素在结构上有很大的差异，其缺少位于类型1和类型2毒素14位的功能重要性氨基酸残基 Arg14，而代之以 His15，它的半胱氨酸位置与这两类毒素也不同。另一种来源于 *Bolocera tuediae* 的长链毒素 ToxinⅡ与类型1和类型2毒素也有极大差别。这些现象说明存在其他一些

类型的长链海葵Na^+通道毒素。另外，海葵Na^+通道毒素按其作用方式可分为神经毒素（如来源于 *Stichodactla gigantea* 毒素 SgⅠ）和心脏毒素（如来源于 *Anemonia sulcata* 的 ATXⅡ）(Norton，1991)。

海葵K^+通道毒素：已从海葵中得到了多种K^+通道毒素，如 AsKs、AsKc、ShK、BgK 等。最近，Diochot（1998）等从海葵 *Anemonia sulcata* 毒液中得到 BDS－Ⅰ和 BDS－Ⅱ两种降血压多肽，对钾离子通道 Kv3.4 具有专一性抑制，这也是首次从海葵中得到的这类通道的专一性抑制剂。它们都含有43个氨基酸残基，仅有两个氨基酸残基位点有差异，在脑突触膜上有相同的结合位点，其 Km 值分别是12和19 nM。与海葵的一些Na^+通道毒素如 AsⅠ、AsⅡ和 AxⅠ有很大的序列相似性，但对位于成神经细胞瘤上的河豚毒素敏感性Na^+通道仅有很微弱的影响，而对心肌和骨骼肌上的Na^+通道不起作用。

2.6 两栖类离子通道毒素

Kolbe（1993）等从非洲爪蟾的皮肤分泌液中分离得到了一种Ca^{2+}通道激活剂，命名为 Xenoxin－1。另一神经毒/细胞毒类似物是由 Macleod（1998）等从同种蟾类中分离得到的由66个氨基酸残基组成的神经毒/细胞毒，它可激活对二氢嘧啶敏感的哺乳类表皮细胞的Ca^{2+}通道，与前者有很相似的结构。

3 动物离子通道毒素与新药开发

动物离子通道毒素总的来说具有如下几个特点：一级结构简单；三维折叠独特、简洁；作用位点高度专一，都作用于电压门控离子通道；作用效率高。动物毒素对于新药的研制与开发具有以下几方面的重要意义：作为直接的治疗因子；为新药研制提供序列和空间结构模型；发现新的药物作用靶标。

3.1 直接作为治疗药物

很多动物毒素是电压门控离子通道的阻断剂或激活剂，它们可直接作为离子通道相关性神经系统、心血管系统疾病以及代谢功能异常的治疗因子，或通过适当的结构改造以改善活性，降低毒性使之成为低毒高效的治疗药物。如Na^+通道毒素可作为治疗癫痫、偏头痛、先天性肌强直、心律不齐等疾病的药物；K^+通道毒素对多种组织硬化、早老性痴呆、心绞痛、心律不齐、高血压、哮喘、免疫抑制以及尿失禁等疾病有潜在的治疗作用；而Ca^{2+}通道阻断剂已作为促智药物，也有望成为心绞痛、心律不齐、高血压、休克、神经保护、早老性痴呆、偏头痛、动脉粥样硬化等疾病的治疗药物。最近，对K^+通道 Kv1.3 的研究表明，Kv1.3 控制人类T淋巴细胞的活化，专一性的 Kv1.3 离子通道抑制剂将对T淋巴细胞的活化产生影响，这类抑制剂很可能成为新的免疫抑制因子，可用于防治移植排斥反应和治疗自身免疫疾病。蝎子毒素 ChTX 是 Kv1.3 离子通道的专一性抑制剂，研究发现，它可抑制白介素－2的产生和T细胞增值（Gregory 等，1999)。另外，很多蝎子毒素只对昆虫有毒性而对哺乳类没有影响，有望成为高效无毒类生物杀虫剂。

3.2 为新药设计提供模板和思路

各种来源的动物毒素通常是分子量较小，富含二硫键，直接作用于分子靶标如离子通道、受体及酶的小分子蛋白。其独特、简洁的三维折叠构型为设计具有特殊生理和药理活性的小分子模拟物提供了优良的三维模板。通过对动物毒素结构的比较研究，可将动物毒素分为以下几个大类：①三维折叠相似但功能不同。如蝎子毒液中的长链毒素和短链毒素在分子大小、氨基酸组成有很大的差异，但它们却具有相似的空间三维折叠模型。这种独特、简单而稳固的折叠构型对于蝎子毒素来说却孕育了多种生物功能，即使对于这两类毒素本身的组成成员来说，它们在功能专一性和有效性方面的差别也是很显著的。前者主要对Na^+离子通道起作用，而后者主要对K^+和Cl^-离子通道起作用。He 等（1999）对两种蝎子α－毒素的结构进行研究后发现，这两种毒素与传统的蝎子α－毒素的结构有明显的差异，这种差异也许暗示了α－毒素对Na^+离子通道结合位点选择性的差异。②三维折叠不同但功能相似。如前面所述，来源于不同生物如蝎子、蛇、蜈蚣、海葵、芋螺的K^+离子通道毒素，它们具有不同的大小、氨基酸序列和空间折叠，但却都对K^+离子通道起作用。③三维折叠相似，功能相似。来源于芋螺和蜘蛛的Ca^{2+}离子通道毒素即属于此例。这些毒素有相似的空间结构，且都与Ca^{2+}离子通道结合。比较这些毒素的结构功能关系，从相似的三维结构中找出微小的差异或从看似不同的三维折叠中找出它们共同遵循的折叠模型，从而真正理解活性——结构关系，为新药设计和分子改造提供思路。

表 4 电压门控离子通道专一性毒素

Table 4 Specific toxins of voltage-gated ion channels

离子通道（ion channel）	阻断剂（blocker）	激活剂（activator）
Ca^{2+}通道 N	ω－芋螺毒素 MVⅡA	
	ω－芋螺毒素 GVⅠA	
P/Q	蜘蛛毒素 ω－Agatoxin-ⅣA	
Q	ω－芋螺毒素 MⅦC	
T	蝎毒肽	
Na^{+}通道	河豚毒素	箭毒蛙生物碱（batrachotoxin）
	肽类毒素 μ－芋螺毒素 GⅢB	乌头生物碱（aconitine）
		蝎子肽类毒素 LqhⅡ
		藻类聚乙醚类毒素（brevetoxin）
		海绵肽类毒素 ATXⅡ
K^{+}通道 Kv1.1，1.2，1.6	蛇毒肽类毒素（α-dendrotoxin）	
Kv1.3	蝎子肽类毒素Charybdotoxin（ChTX） Margatoxin	
Kv2.1	蜘蛛毒素 Hanatoxin1、Hanatoxin2	
Kv3.4	海葵毒素 BDS－Ⅰ和 BDS－Ⅱ	
Kv4.2	蜘蛛毒素 Heteropodatoxins	
Ca^{2+}激活的 K^{+}通道	蝎子毒素 Lberotoxin	

3.3 发现新的药物作用靶点

事实上，很多动物毒素已成为识别和研究很多电压门控离子通道的毒理和药理学工具（表4）。随着对动物毒素的深入研究和新的动物毒素被发现，对离子通道毒素作用机理会有更清楚的认识，将会发现更多的电压门控离子通道的类型和亚型，找到更多的药物及其作用靶点。由于离子通道在维持细胞的正常生理功能中起着极其重要的作用，调控离子通道的功能就可能成为治疗多种神经性疾病、心血管疾病的手段。但是与以受体作为靶点的临床药物发展相比，以离子通道为靶点的临床药物的发展正处于起步阶段。随着对各种神经性疾病机理研究工作的开展，以离子通道为靶点的新药开发与研究已成为必然的发展趋势。而各种类型的动物离子通道毒素，由于其对各种离子通道类型（特别是亚型）具有高度的作用专一性和高效性，以及它们独特、简洁的三维空间结构，将在离子通道的生物学功能研究，新治疗靶点的寻找，新药先导结构的发现以及新药设计中占有其独特而重要的位置。

参 考 文 献

Craig A G, Norberg T, Griffin D *et al*, 1999. Contulakin-G, an O-glycosylated invertebrate neurotensin[J]. *J. Biol. Chem.*, **274**(20): 13752－13759.

Dai L, Wu J J, Gu Y H *et al*, 2000. Genomic organization of three novel toxins from the scorpion *Buthus martensi* Karsch that are active on potassium channels[J]. *Biochem. J.*, **346**(3): 805－809.

Diochot S, Schweitz H, Beress L *et al*, 1998. Sea anemone peptides with a specific blocking activity against the fast inactivating potassium channel Kv3.4[J]. *J. Biol. Chem.*, **273**(12): 6744－6749.

England L J, Imperial J, Jacobsen R *et al*, 1998. Inactivation of a serotonin-gated ion channel by a polypeptide toxin from marine snails [J]. *Science*, **281**(5376): 575－578.

Fletcher J I, Chapman B E, Mackay J P *et al*, 1997a. The structure of versutoxin (delta-atracotoxin-Hv1) provides insights into the binding of site 3 neurotoxins to the voltage-gated sodium channel[J]. *Structure*, **5**(11): 1525－1535.

Fletcher J I, Smith R, O'Donoghue S I *et al*, 1997b. The structure of a novel insecticidal neurotoxin, omega-atracotoxin-HV1, from the venom of an Australian funnel web spider[J]. *Nat. Struct. Biol.*, 4(7): 559－566.

Froy O, Sagiv T, Poreh M *et al*, 1999. Dynamic diversification from a putative common ancestor of scorpion toxins affecting sodium, potassium, and chloride channels[J]. *J. Mol. Evol.*, **48**(2): 187－196.

Gregory J K, Maria L G, 1999. Pharmacology of voltage-gated and calcium-activated potassium channels[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 3: 448－458.

Harvey A L, Bradley K N, Cochran S A *et al*, 1998. What can toxins tell us for drug discovery[J]. *Toxicon*, **36**(11): 1635－1640.

He X L, Li H M, Zeng Z H *et al*, 1999. Crystal structures of two alpha-like scorpion toxins: non-proline cis peptide bonds and implications for new binding site selectivity on the sodium channel[J]. *J. Mol. Biol.*, **292**(1): 125－135.

Jia L Y, Zhang J W, Ji Y H, 1999. Biosensor binding assay of BmK AS-1, a novel Na^{+} channel-blocking scorpion ligand on rat brain synaptosomes[J]. *Neuroreport*, **10**(16): 3359－3362.

Kolbe H V, Huber A, Cordier P *et al*, 1993. Xenoxins, a family of peptides from dorsal gland secretion of *Xenopus laevis* related to snake venom cytotoxins and neurotoxins[J]. *J. Biol. Chem.*, **268**(22): 16458－16464.

Lubsen J, 1998. The calcium channel antagonist debate: recent develop-

ments[J]. *Eur. Heart. J.*, **19**(Suppl.1):3 - 17.

Macleod R J, Lembessis P, James S *et al*, 1998. Isolation of a member of the neurotoxin/cytotoxin peptide family from *Xenopus laevis* skin which activates dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channels in mammalian epithelial cells[J]. *J. Biol. Chem.*, **273**(32): 20046 - 20051.

Maria L G, Markus H, Gregory J K, 1998. Scropin toxins: tools for structure K^+ channels[J]. *Toxicon*, **36**(11): 1641 - 1650.

McDonough S I, Mintz I M, Bean B P, 1997. Alteration of P-type calcium channel gating by the spider toxin omega-aga-IVA[J]. *Biophys. J.*, **72**(5): 2117 - 2128.

Mcintosh J M, Hasson A, Spira M E *et al*, 1995. A new family of conotoxins that blocks voltage-gated sodium channels[J]. *J Biol Chem.*, **270**(28): 16796 - 16802.

Nicholson G M, Little M J, Tyler M *et al*, 1996. Selective alteration of sodium channel gating by Australian funnel-web spider toxins[J]. *Toxicon*, **34**(11 - 12): 1443 - 1453.

Norton R S, 1991. Structure and structure-function relationships of sea anemone proteins that interact with the sodium channel[J]. *Toxicon*, **29**(9): 1051 - 1084.

Piller S C, Ewart G D, Premkumar A *et al*, 1998. Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 forms cation-selective channels in planar lipid bilayers[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**(1): 111 - 115.

Plummer N W, Meisler M H, 1999. Evolution and diversity of mammalian sodium channel genes[J]. *Genomics*, **57**(2): 323 - 331.

Sanguinetti M C, Johnson J H, Hammerland L G *et al*, 1997. Heteropodatoxins: peptides isolated from spider venom that block Kv4.2 potassium channels[J]. *Mol. Pharmacol.*, **51**(3): 491 - 498.

Shu Q, Liang S P, 1999. Purification and characterization of huwentoxin-II, a neurotoxic peptide from the venom of the Chinese bird spider *Selenocosmia huwena*[J]. *J. Pept. Res.*, **53**(5): 486 - 491.

Soong T W, Stea A, Hodson C D *et al*, 1993. Structure and functional expression of a member of the low voltage-activated calcium channel family[J]. *Science*, **260**(5111): 1133 - 1136.

Swartz K J, MacKinnon R, 1995. An inhibitor of the Kv2.1 potassium channel isolated from the venom of a *Chilean tarantula*[J]. *Neuron*, **15**(4): 941 - 949.

William A C, 1995. Structure and function of voltage gated-sodium channels[J]. *Annu. Rev. Biochem.*, **64**: 493 - 531.

Wu J J, Dai L, Lan Z D *et al*, 2000. The gene cloning and sequencing of Bm-12, a chlorotoxin-like peptide from the scorpion *Buthus martensi* Karsch[J]. *Toxicon*, **38**(5): 661 - 668.

Xiong Y M, Lan Z D, Wang M *et al*, 1999. Molecular characterization of a new excitatory insect neurotoxin with an analgesic effect on mice from the scorpion *Buthus martensi* Karsch[J]. *Toxicon*, **37**(8): 1165 - 1180.

Xu L, Furukawa S, Middlebrooks J C, 1999. Auditory cortical responses in the cat to sounds that produce spatial illusions[J]. *Nature*, **399**(6737): 688 - 691.

Zeng X C, Li W X, Zhu S Y *et al*, 2000. Cloning and characterization of a cDNA sequence encoding the precursor of a chlorotoxin-like peptide from the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch[J]. *Toxicon*, **38**(8): 1009 - 1014.

Zhang J F, Randall A D, Ellinor P T *et al*, 1993. Distinctive pharmacology and kinetics of cloned neuronal Ca^{2+} channels and their possible counterparts in mammalian CNS neurons[J]. *Neuropharmacology*, **32**: 1075 - 1088.

ANIMAL TOXINS ACTING ON ION CHANNELS AND DRUG DISCOVERY

LAI Ren ZHA Hong-Guang ZHANG Yun

(*Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650223, *China*)

Abstract: Animal venoms are among the richest sources of toxins and pharmacologically active compounds that act on ion channels. At present, many novel pharmacological agents of great potential interests to pharmacologists and neuroscientists are being characterized from the venoms of reptiles, spiders, scorpions, sea anemones and cone snails. These toxins are widely used to elucidate the interrelationship between the structure/function of their targets. Many animal toxins are often of small size peptides, rich in disulfide bonds. They exert multiple functions acting on a variety of molecular targets, including ion channels, enzymes and receptors. With their high potency and selectivity to voltage-gated ion channels and their unique and simple three-dimensional folds, many low molecular toxins are often useful as a model to discover, design novel drug leads and to reveal potential therapeutic targets. The classification and specificity of animal toxins and their potency in drug exploitation were discussed.

Key words: Animal toxins; Ion channel; Medicine